

BEST AVAILABLE COPY

B5

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number : 59-021685

(43) Date of publication of application : 03.02.1984

(51) Int.CI.

C07D475/04

(21) Application number : 57-132793

(71) Applicant : SUNTORY LTD

(22) Date of filing : 28.07.1982

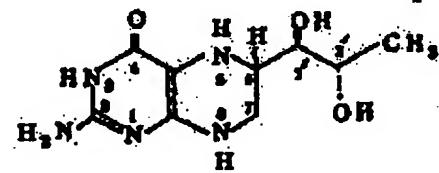
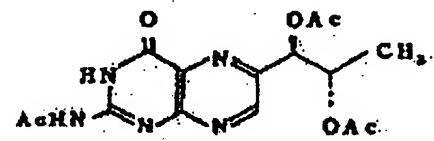
(72) Inventor : TATSUOKA TOSHIO
ISHIGURO MASAJI
NAKATSUKA NOBUO

(54) PREPARATION OF TETRAHYDRO-L-BIOPTERIN

(57) Abstract:

PURPOSE: To prepare the titled compound useful as a coenzyme, a reagent, etc., with simple operation, in high yield and purity, by catalytically reducing triacetyl-L-biopterin, followed by acetylation, optical resolution and hydrolysis of the product.

CONSTITUTION: The objective 5,6,7,8-tetrahydro-L-erythro-biopterin of formula II can be prepared by (1) catalytically reducing 2-N-acetyl-1',2'-di-O-acetyl-L-erythro-biopterin of formula I using a catalyst such as platinum oxide, etc., (2) acetylating the product to obtain 2-N-acetyl-5,8-di-N-acetyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8-tetrahydro-L-erythro-biopterin, (3) optically resolving the product into 6-R isomer and 6-S isomer, and (4) hydrolyzing the isomer in the presence of a mineral acid such as hydrochloric acid.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of
rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

⑪ 公開特許公報 (A)

昭59—21685

⑫ Int. Cl.³
C 07 D 475/04識別記号
厅内整理番号
6664—4C

⑬ 公開 昭和59年(1984)2月3日

発明の数 3
審査請求 未請求

(全 6 頁)

④ テトラヒドロ-L-バイオブテリンの製造法

② 特 願 昭57—132793

② 出 願 昭57(1982)7月28日

② 発明者 立岡敏雄
大阪府三島郡島本町水無瀬2丁
目2番2号

② 発明者 石黒正路

池田市石橋2丁目13番地22号

② 発明者 中塚伸夫

枚方市宮之阪3丁目21番地5号

② 出願人 サントリー株式会社
大阪市北区堂島浜2丁目1番40
号

② 代理人 弁理士 竹内卓

明細書

1 発明の名称

テトラヒドロ-L-バイオブテリン
の製造法

2 特許請求の範囲

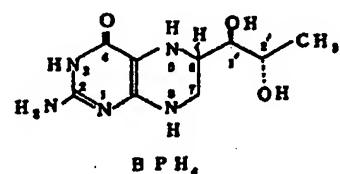
1 2-N-アセチル-1,2-ジ-O-アセチル-L-エリスローバイオブテリンを接触還元したのちアセチル化して2-N-アセチル-5,8-ジ-N-アセチル-1,2-ジ-O-アセチル-5,6,7,8-テトラヒドロ-L-エリスローバイオブテリンを生成させ、次いでこれを光学分割したのち加水分解することを特徴とするテトラヒドロ-L-エリスローバイオブテリンの製造法。

2 2,5,6-トリアミノ-4-ピリミジノールに5-デオキシアラビノースのヒドロゾンを作用させたのちヨウ素、過酸化水素水および酸素を作用させてL-エリスローバイオブテリンを得、これをアセチル化して得られる2-N-

セチル-1,2-ジ-O-アセチル-L-エリスローバイオブテリンを接触還元したのちさらにアセチル化して2-N-アセチル-5,8-ジ-N-アセチル-1,2-ジ-O-アセチル-5,6,7,8-テトラヒドロ-L-エリスローバイオブテリンを生成させ、次いでこれを光学分割したのち加水分解することを特徴とするテトラヒドロ-L-エリスローバイオブテリンの製造法。
3 2-N-アセチル-5,8-ジ-N-アセチル-1,2-ジ-O-アセチル-5,6,7,8-テトラヒドロ-L-エリスローバイオブテリン。

3 発明の詳細な説明

本発明は5,6,7,8-テトラヒドロ-L-エリスローバイオブテリン(以下BPH₄と略称)の製造法に関する。



BPH_4 は6位の水素の立体配置により6-(R)および6-(S)異性体が知られている〔Fugger, H. J.ら, *Helv. chim. Acta*, 62, 2577(1979)〕。

そして、なかんずく6-(R) BPH_4 はフェニルアラニン水酸化酵素の補酵素であると同時に、他の芳香族アミノ酸水酸化酵素の補酵素でもある。それ故その欠乏は神経伝達物質であるセロトニン、ドーパミン、ノルアドレナリン、アドレナリンなどを欠乏させ、重篤な神経症状を発症させる。また、先天性代謝異常症の一つである悪性高フェニルアラニン血症は既存の薬物療法では容易には治療できまい難病であるが、これは6-(R) BPH_4 の欠乏によりフェニルアラニンのチロジンへの変換が阻害されるために起ることが知られている。

悪性高フェニルアラニン血症の治療に6-(R)- BPH_4 の投与が考えられるが、そのためには本品を高純度に経済的に量産する方法の開発が望まれている。

また、6-(S)- BPH_4 は生化学研究上の試薬として有用である。

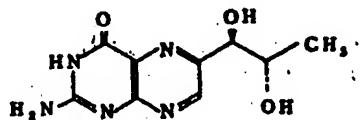
本発明者らは先ずL-BPの製造について研究を重ね、簡単な操作で大量のL-BPを得ることに成功した。

松浦らは5-デオキシ-L-アラビノースのフェニルヒドrazinをトリアミノピリミジノールと結合させた組合体をフェリシアン化カリ、ヨー化カリ、過酸化水素水および酸素を用いて酸化し、生成物をアンモニア水で抽出し、フロリジルカラムにより精製している。この場合、溶出に大量の水を必要とするばかりでなく、L-BPの直後に副生物のブテリンが溶出されるため純粋なL-BPを完全に取り出すことが困難である。

本発明者らは上記の組合体をヨー素、過酸化水素水および酸素で酸化したのち、有機溶媒でヨー素を除去すれば容易に粗結晶としてL-BPが得られることを見出した。この粗結晶をアセチル化し、シリカゲルカラムクロマトグラフィを行ってトリアセチルバイオブテリンを得、それを加水分解して高収率でL-BPを得ることができた。

また、6-(RまたはS)- BPH_4 の合成法と

一方、 BPH_4 を合成するためにはL-エリスロ-バイオブテリン(以下L-BPと略称)が重要な中間体となる。



L-BP

従来、L-BPの製造法としては、Patterson, E. L.ら〔J. Am. Chem. Soc., 78, 5868(1956)〕、Taylor, E. C.ら〔同誌, 98, 2301(1976)〕、Andrews, K. J. M.ら〔J. Chem. Soc(C), 1969, 928〕、Viscontini, M.ら〔Helv. Chim. Acta, 52, 1225(1969)〕などの報告があるが、収率、純度および精製法など多くの問題がある。また、松浦ら〔Bull. Chim. Soc. Jap., 52, 181(1979)〕は収率28%でL-BPを得ているが、反応処理の複雑さ、副生物の混入など多くの問題が未解決である。

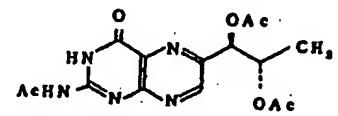
してViscontini, M.ら〔Helv. Chim. Acta, 52, 2577(1979)〕はトリアセチル-L-BPを還元したのち、アセチル化して2-N-アセチル-5-N-アセチル-1,2-ジ-O-アセチル-5,6,7,8-テトラヒドロ-L-エリスロ-バイオブテリン(以下テトラアセチル体と略称)を得、これを光学分割、加水分解して目的物を得ている。しかしながらテトラアセチル体は非常に酸素に敏感で、通常の再結晶法による光学分割は困難であり、光学純度の高い目的物を得るには非常な努力を要する。

本発明者らは、トリアセチル-L-BPを還元したのち、無水酢酸と加熱することにより2-N-アセチル-5,8-ジ-N-アセチル-1,2-ジ-O-アセチル-5,6,7,8-テトラヒドロ-L-エリスロ-バイオブテリン(以下ペンタアセチルと略称)が得られ、この化合物は安定で、シリカゲルカラムを用いるクロマトグラフィにより容易に光学異性体(RおよびS)を分離できることを知った。

本発明はこれらの新知見に基づくもので、(I) 2-N-アセチル-1,2-ジ-O-アセチル-L-エリスローバイオブテリン[トリアセチル-L-BP]を接触還元したのちアセチル化して2-N-アセチル-5,8-ジ-N-アセチル-1,2-ジ-O-アセチル-5,6,7,8-テトラヒドロ-L-エリスローバイオブテリン[ペンタアセチル]を生成させ、次いでこれを光学分割したのち加水分解することを特徴とするテトラヒドロ-L-エリスローバイオブテリン[BPH₄]の製造法、および(II) 2,5,6-トリアミノ-4-ピリミジノール[5-デオキシアラビノースのヒドラソン]作用させたのちヨウ素、過酸化水素水および酵素を作用させてL-エリスローバイオブテリン[L-BP]を得、これをアセチル化して得られる2-N-アセチル-1,2-ジ-O-アセチル-L-エリスローバイオブテリン[トリアセチル-L-BP]を接触還元したのちさらにアセチル化して2-N-アセチル-5,8-ジ-N-アセチル-1,2-ジ-O-アセチル-5,6,7,8-テトラヒドロ-L-

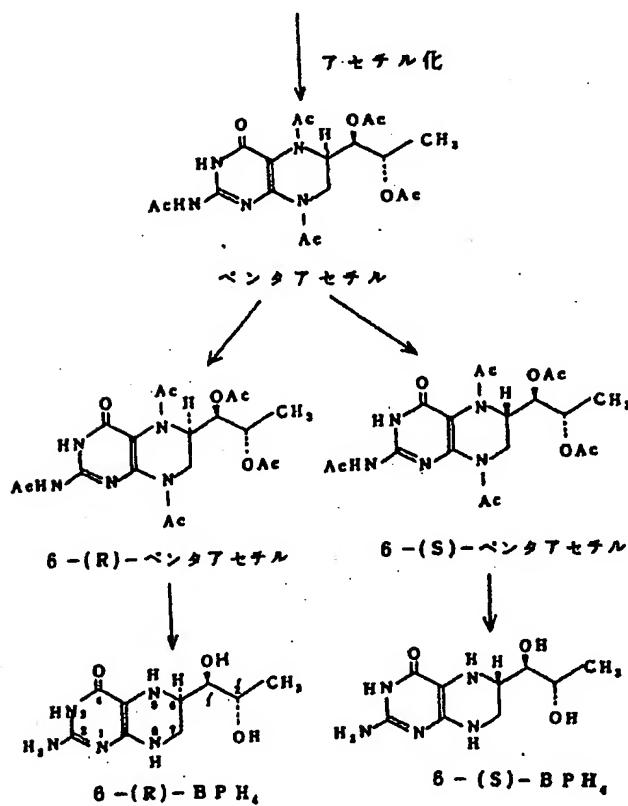
1947-610004-1
エリスローバイオブテリン[ペンタアセチル]を生成させ、次いでこれを光学分割したのち加水分解することを特徴とするテトラヒドロ-L-エリスローバイオブテリン[BPH₄]の製造法、および(III) 2-N-アセチル-5,8-ジ-N-アセチル-1,2-ジ-O-アセチル-5,6,7,8-テトラヒドロ-L-エリスローバイオブテリン[ペンタアセチル]である。

本発明の方法(I)の反応工程は次のように示されよう。

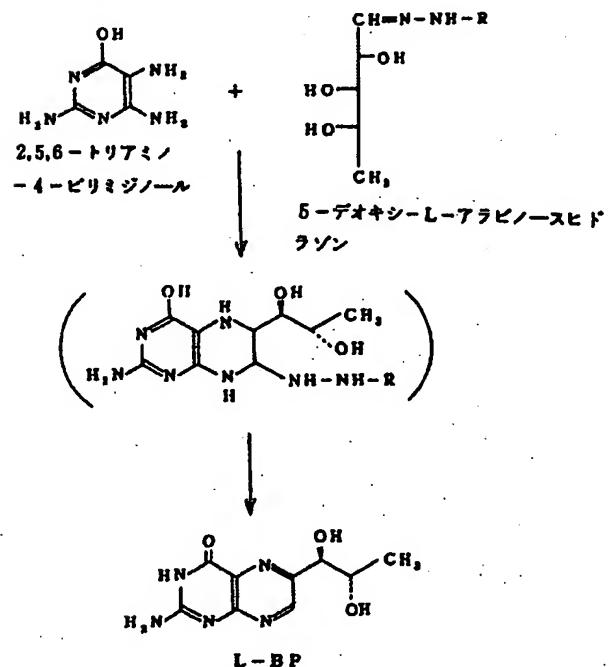


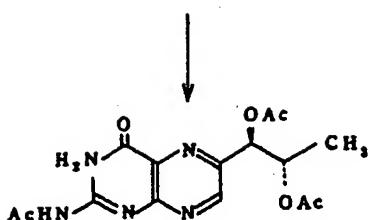
トリアセチル-L-BP

接触還元



本発明の方法(II)の反応工程の後半は(I)と同様であるが前半は次のように示されよう。





トリアセチル-L-BP
(式中Rは芳香族基)

本発明によれば、トリアセチル-L-BPを接触還元およびアセチル化してベンタアセチルを得る。

接触還元はトリフルオロ酢酸のような溶媒中で常法により行いうる。触媒としては酸化白金、ロジウム、パラジウムなどが挙げられるが、好ましいのは酸化白金である。次いで、得られた還元成綱体をアセチル化する。この反応は究極アセチル化で、そのために無水酢酸のようなアセチル化剤を加熱下に作用させるのがよい。

かくして得られたベンタアセチルを6-(S)体と

をアセトン、メタノールのような有機溶媒で洗浄してヨウ素を除去し、たとえばアンモニア水で抽出、濃縮すれば高収率でL-BPの粗結晶が得られる。この粗結晶は精製することなく直ちにアセチル化することができる。このアセチル化は、たとえば無水酢酸-酢酸を用いて行うことができる。反応生成物は、次いで、シリカゲル等を担体とするカラムクロマグラフィにより容易に精製することができる。

かくしてトリアセチル-L-BPを収率よく製造することができる。

本発明の他の一部は2-N-アセチル-5,8-ジ-N-アセチル-1,2-ジ-O-アセチル-5,6,7,8-テトラヒドロ-L-エリスローバイオブテリン〔ベンタアセチル〕であり、本化合物は前記のように安定な新規物質であって、BPH₄製造の中間体として有用である。

次に実施例を示すが本発明がこれらの例に限定されないことはいうまでもない。

実施例1. L-エリスローバイオブテリンの製造

6-(S)体に光学分割する。この分割は、たとえばシリカゲルカラムクロマグラフィにより行うことができる。

次いで各光学異性体を加水分解する。この反応は塩酸のような試験の存在下に緩和な条件で進行させるのが望ましい。

かくして6-(R)-BPH₄および6-(S)-BPH₄を得ることができる。

本発明の一部によれば、トリアセチル-L-BPを得るために、先ず2,5,6-トリアミノ-4ピリミジノールに5-デオキシ-L-アラビノースヒドロゾンを作用させ、生成する中間体をヨウ素、過酸化水素水および碘素で酸化する。

5-デオキシ-L-アラビノースヒドロゾンは公知の方法により5-デオキシ-L-アラビノースをフェニルヒドランのような芳香族ヒドランと作用させることにより得られる。

酸化反応はヨウ素、過酸化水素水を加えた中間体の溶液に酸素を通導して行われる。

反応混合物から減圧下に溶媒を留去し、残留物

13.6 g (0.089モル)の5-デオキシ-L-アラビノース1水和物を30 mLのエタノールにとかし、3滴の酢酸を加える。10.3 g (0.107モル)のフェニルヒドランを5 mLのエタノールにとかし加える。数分後反応物は固化する。反応物は30分室温に放置し、ここに150 mLのメタノールを加え、攪拌しながら固化物を溶解する。次に450 mLの水、300 mLメタノールに11.5 g (0.054モル)の2,5,6-トリアミノピリミジノール・2塩化物をとかした溶液に生成したヒドロゾン溶液を一度に加え、チッ素気流下40分間加熱還流する。加熱することにより溶液は濃赤色になる。加熱後冰水を用い冷却する。

一方22.9 g (0.09モル)ヨウ素、40 mL 30%過酸化水素水、15 mL 98%ギ酸、400 mLメタノールの混合液を0~5°Cに保つ。この酸化剤の溶液に酸素ガスを吹き込みながら上記結合反応物の溶液を加え、30分間0~5°Cに保ちながら激しく攪拌する。さらに3時間室温で反応を行ない完結させる。

反応終了後、減圧下濾絞乾固により得られた固体を300mLアセトン、200mLメタノールで洗いヨウ素等を除き、1000mLの2%アンモニア水を用いBPを抽出する。抽出液をつづいて1/4に濃縮すると沈殿物が生じてくる。生じた沈殿物を沪取し、50mLの水で2回、100mLのメタノールで3回洗い乾燥すると、4.8g(37%)の粗結晶が得られる。

* この粗結晶は高速液体クロマトにより96%L-BP含有と同定された。

(*ワットマン社製(Whatman社製)Partisi I-10ccxカラム 12.5mM pH3.3酢酸-アンモニアバッファーの溶出溶媒を用いた。)

粗結晶4.8gを750mL無水酢酸、200mL酢酸にとかし4時間加熱還流する。減圧下濾絞乾固後カラムクロマトにより精製する。カラムクロマトは350gのシリカゲル(メルク社Kieselgel 60)を用い、溶出溶媒として5%メタノール塩化メチレンで溶出すると6.86g(0.019モル)のトリアセチル-L-バイオブテリンが油状物

Furrer, H. J. と Helv. Chim. Acta, 62, 2577 (1979)を40mLのトリフルオロ酢酸に溶解した溶液を作り、水素ガス雰囲気下、激しく搅拌しながら還元を行なう。反応終了後、触媒はアルゴン気流下減圧沪過により除去し、溶液を濾絞乾固する。

残渣をアルゴン雰囲気下2.0mLの濃塩酸と処理し、次いで冷やした24mLメタノール(無酸素)、冷却した無酸素エーテル250mLを加えると無色沈殿が生じる。沈殿物を遠心分離により集め、残っている溶液は減圧下取り除く。

沈殿物をアルゴン気流下40mLの無水酢酸に溶解し、あらかじめ120℃に加熱しておいた油浴中で1時間加熱する。溶液を減圧下留去すると1.42gの残渣が得られる。

分離、精製は140gのシリカゲル(メルク社Kieselgel 60)を用い、カラムクロマトにより分離する。溶出溶媒は塩化メチレン-メタノール(95:5)を用い注意深くカラムクロマトを行なうことにより目的とするD-(R)-ベンタアセ

として得られる(収率35%)。

このトリアセチル-L-バイオブテリンは文献記載の物理定数と一致する。

トリアセチル-L-バイオブテリン6.86gを3N-HCl 6550mLに溶解し、50℃1時間加熱することにより定量的に加水分解される。減圧下水を除去し、残渣を2%アンモニア水で抽出、20%酢酸-水から再結晶を行なうと4.40g(0.019モル)の純粋な結晶が得られた。収率34%。

得られたL-エリスロ-バイオブテリンはNM-Rスペクトル、IRスペクトル、UVスペクトル、 $[\alpha]_D$ 等で文献記載(松浦ら Bull. Chim. Soc. Jap., 52, 181 (1979))のL-エリスロ-バイオブテリンと完全に一致した。

実施例2. 5,6,7,8-テトラヒドロ-L-エリスロ-バイオブテリンの製造

360mgの酸化白金を20mLのトリフルオロ酢酸に懸濁して水素雰囲気下活性化する。一方1.20g(3.31mモル)の2-N-アセチル-1,2-ジ-O-アセチルバイオブテリン(文献既知)[

チル体 [6-(S)-2-N-アセチル-5,8-ジ-O-アセチル-1,2-ジ-O-アセチル-5,3,7,8-テトラヒドロバイオブテリン]が597mg(1.32mモル、収率40%)得られる。この時光学異性体6-(S)-ベンタアセチル体は329mg(0.73mモル、収率22%)得られる。

6-(R)-ベンタアセチル体の物理定数

UVスペクトル: $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 237m μ ($\epsilon=23000$), 267m μ ($\epsilon=8200$)

312m μ ($\epsilon=11000$)

I.R.スペクトル: (cm^{-1} , in CHCl₃) 1200, 1220, 1615, 3000,

¹H-NMRスペクトル: δ ppm (D₆-DMSO)

1.20 (α , 3H; $J=6\text{Hz}$, 3-CH₃)

1.85 (s, 3H) 2-OCOCH₃)

2.05 (s, 3H) 1'-OCOCH₃)

2.07 (s, 3H) 5-NCOCH₃)

2.25 (s, 3H) 2-NCOCH₃)

2.26 (s, 3H) 8-NCOCH₃)

3.00~3.62 (m, 2H, 1'-H, 2'-H)

3.95 (α , 1H) = 14 Hz, 6-H)	3.84 (d, d, 1H, 1-H)
4.44~5.04 (m, 2H, 7-H)	4.02 (d, 1H, 6-H)
11.48, 11.58 (1H, 3-NH)	4.80~5.27 (m, 2H, 7-H)
12.00 (1H, 2-NH)	11.55 (1H, 3-NH)
Mass スペクトル M^+ m/z 451(b.p.), 393,279	11.98 (1H, 2-NH)
6-(S)-ベンタアセチル体の物理定数	Mass スペクトル M^+ m/z 451(b.p.), 395,393,335,
UVスペクトル: λ_{max}^{EtOH} 237 nm ($\epsilon=18200$), 267	279
(5800)	
310 ($\epsilon=8200$)	
I.R.スペクトル: ($\alpha^{-1}, \text{CHCl}_3$) 1200, 1220, 1610,	
1670	
3000	
¹ H-NMRスペクトル: δ ppm (D_6 -DMSO)	
1.16 (d, 3H, J=8 Hz, 3-CH ₃)	2'-OCOCH ₃)
1.89 (s, 3H)	1'-OCOCH ₃)
1.91 (s, 3H)	5-NCOCH ₃)
2.03 (s, 3H)	2-NCOCH ₃)
2.22 (s, 3H)	8-NCOCH ₃)
2.25 (s, 3H)	
3.10~3.50 (m, 1H, 2'-H)	

6-(R)-ベンタアセチル体 59.7 g を 600 ml の 3 N-HC₆ に溶解しアルゴン雰囲気下 4 日間室温 (22°C) に放置後、凍結乾燥すると目的とした 6-(R)-BPH₄ (6-(R)-5,6,7,8-テトラヒドロ-1-エリスローバイオブテリン)・2 塩酸塩が定量的に得られる。収量 31.9 g (1.32 mol, 収率 40%)。

得られた 6-(R)-BPH₄ は文献 (Furrer, H. J. と Helv. Chim. Acta, 62, 2577 (1979) 記載の ¹H-NMR, ¹³C-NMR, [α]_D と完全に一致した。

同様に 6-(S)-ベンタアセチル体からも定量的に 6-(S)-BPH₄・2 塩酸塩が収率 22% (176

g, 0.73 mol) で得られ、物理データーは文献値、Furrer, H. J. と Helv. Chim. Acta, 62, 2577 (1979) と一致した。

出 脂 人 サントリー株式会社

代 理 人 弁理士 竹 内

